

Evaluation of intestinal mucosal function by  
measuring expired  $^{14}\text{C}_0_2$  after oral  
administration of  $^{14}\text{C}$ -putrescine

著者	佐々木 哲
発行年	2001-12-12
その他の言語のタイトル	$^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後の呼気中 $^{14}\text{C}_0_2$ 値測定による小腸粘膜機能の評価 14C プトレッシン ケイコウ トウヨゴ ノ コキチュウ 14C02チ ソクテイ ニ ヨル ショウチョウ ネン マク キノウ ノ ヒョウカ
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10422/2752">http://hdl.handle.net/10422/2752</a>

氏 名 (本籍)	佐々木 哲 (三重県)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博士 (論) 第286号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成13年12月12日
学 位 論 文 題 目	Evaluation of intestinal mucosal function by measuring expired $^{14}\text{CO}_2$ after oral administration of $^{14}\text{C}$ -putrescine ( $^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後の呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値測定による小腸粘膜機能の評価)

審査委員	主査 教授	松 浦 博
	副査 教授	堀 池 喜八郎
	副査 教授	服 部 隆 則

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

ポリアミンの主要物質であるプトレッシンはジアミンオキシダーゼ(DAO)によって代謝され、最終的に $\text{CO}_2$ とGABAに分解される。DAO活性は小腸で最も高く、腸粘膜DAOは、腸上皮細胞の成熟度を反映すると考えられている。我々はすでに $^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後の呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ が小腸DAO活性と相関することを示した。しかしながら、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ が食餌組成の違いや小腸切除後のadaptationによりどのように変化するかについては明らかにされていない。そこで $^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後のラット呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値における経腸栄養剤や50%小腸切除の影響について検討し、さらにこれらの値を小腸DAO活性や他の粘膜パラメーターと比較した。

### 【方 法】

Wistar系雄性ラット(200-220g)に普通固形食あるいはelemental diet(ED)1kcal/mlを2週間投与した。呼気捕集試験は、ラットに $^{14}\text{C}$ -プトレッシン( $1.85 \times 10^6 \text{Bq}$ )を経口投与し、密閉容器内に入れ、95% $\text{O}_2$ +5% $\text{CO}_2$ 混合ガスを毎分0.5L流した。捕集びんには10mMのハイアミンハイドロキサイド1mlと、エタノール2mlと適量のフェノールフタレインを入れ呈色し、流出ガス中の $\text{CO}_2$ に反応し色が消失するまで捕集した。 $^{14}\text{C}$ -プトレッシン投与直後から8時間後までの1時間毎に採取し、放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。また、DAO阻害剤アミノグアニジンは、25mg/kgをプトレッシン投与直前に腹腔内投与した。呼気捕集試験終了後小腸を取り出し、粘膜湿重量を測定後、ホモゲナイズした。ホモジネートの蛋白量をLowry法で、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性をKind-King法で、DAO活性をTrydingとWillertの方法で測定した。空腸と回腸より2cmの分節を切除し、ホルマリンで固定した。パラフィンで包埋後、切片をヘマトキシリン-エオジン染色し、絨毛高および陰窩深を計測した。小腸切除モデルは、ラットを麻酔し腹壁を正中切開した。空腸切除群はトライツ靱帯より5cmから遠位側55cmまでの空腸を切除し、回腸切除群は回盲弁より5cmから近位側55cmまでの回腸を切除した。残存腸管を端々吻合後、ラットにセファゾリンを投与し、腹壁を閉じた。腸切除群の呼気試験は術後5日、10日、15日に行い、それぞれ小腸DAO活性や他の粘膜パラメーターを測定した。

### 【結 果】

食餌組成の違いによる検討において、ED群では普通固形食群に比べ $^{14}\text{CO}_2$ 値は早い時間にピークを迎え、最高値は約2.9倍に増加した。一方、DAO阻害剤であるアミノグアニジン投与では早期の $^{14}\text{CO}_2$ 値の増加は完全に阻害された。腸粘膜パラメーターの比較では、腸粘膜湿重量と蛋白量はED群が普通食群に比べ低下した。一方、ALP活性とDAO活性は、ED群が普通食群に比べ高値を示した。アミノグアニジン投与では腸粘膜DAO活性は減少したが、ALP活性には影響を及ぼさなかった。空腸の絨毛高と陰窩深は3群間に相違はなかったが、回腸ではED群が絨毛高、陰窩深と

もに短くなっていた。50%小腸切除による影響では、空腸切除群では呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値は増加し、そのピーク値は術後15日では、より早い時間に偏位した。一方、回腸切除群では呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値は、切除5日目すでに $^{14}\text{C}$ -プトレッシン投与1時間後にピークを示し、その時間的経過のパターンは切除15日目まで変化しなかった。腸粘膜パラメーターでは、腸粘膜湿重量と蛋白量は小腸切除群がコントロール群より高値を示したが、各群間の値は術後5日、10日、15日目で変化はなかった。腸粘膜DAO活性は空腸あるいは回腸切除群ともに術後5日目と10日目でコントロール群より高値を示した。しかし、術後15日目では3群間に相違はなかった。絨毛高と陰窩深は腸切除群がコントロール群より高値を示した。

#### 【考 察】

ED群では絨毛高と陰窩深に関係なく、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値のレベルとALP活性の増加を認めたため、食物組成がDAO活性に影響を与えており、EDは粘膜質重量が減少するだけでなく、粘膜の機能も変化していると考えられる。ED群でALPやDAO活性が高値を示した原因については、普通固形食に多く含まれる食物繊維がEDに含まれていないため、粘膜表層のDAOやALPを多く発現している上皮細胞は、EDでは遊離されにくい可能性がある。また、脂質は小腸リンパ管にDAOやALPを放出させるとの報告があるため、EDは普通固形食に比べて腸細胞上皮からのDAOとALPの放出が少ないことも原因と考えられる。小腸切除後の粘膜増殖は術後の各群で有意な変化はなかった。回腸切除群では術後の呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ ピーク値はコントロール群に比べ、早い時間に偏位した。したがって、小腸切除後の腸粘膜DAO活性の変化は他の粘膜パラメーターと独立し、上皮細胞の成熟度を示していると考えられる。さらに、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ の曲線は、腸粘膜DAO活性に加えて残存小腸の運動性やポリアミン吸収能といった機能も反映していると思われる。

#### 【結 語】

今回の研究により $^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後の呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値は小腸DAO活性と関連し、かつ小腸機能を反映することが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

小腸機能検査法として消化吸収試験以外で確立されたものは少ない。本研究はジアミンオキシダーゼ(DAO)が腸上皮細胞の成熟度を反映することに着目し、DAOの基質である $^{14}\text{C}$ -プトレッシン経口投与後の呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 値を測定し、小腸粘膜DAO活性と比較することで小腸機能を評価したものである。本研究で得られた結果は以下の通りである。

1. 成分栄養剤群では通常食に比べ $\text{CO}_2$ ピーク値は増加し、DAO阻害剤であるアミノグアニジン投与では $\text{CO}_2$ 排出量は著明に抑制された。
2. 小腸切除群では、 $\text{CO}_2$ 排出量は非切除群に比べ増加し、排出曲線は経時的に変化した。
3. 小腸粘膜DAO活性は、アミノグアニジン投与群で低値を示し、成分栄養剤群や小腸切除群で増加した。

以上より、 $^{14}\text{C}$ -プトレッシン呼気捕集試験は小腸粘膜DAO活性と同様に小腸機能の評価に有用と考えられ、本研究は新しい小腸機能検査法の確立に寄与するところが大い。よって本論文は博士(医学)の学位論文に値するものである。